

UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK KATEKIN DARI DAUN GAMBIR (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) TERHADAP SEL MCF-7

Dwi Dinni Aulia Bakhtra^{1*}, Nifira Sakinah², Aried Eriadi¹

¹Departemen Biologi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Padang (STIFARM Padang)

²Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Padang (STIFARM Padang)

*E-mail: dwidinni89@gmail.com

Abstrak

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang paling mematikan bagi wanita. Pengobatan dengan kemoterapi sering menimbulkan efek samping yang merugikan. Katekin dari daun gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb) memiliki aktivitas sitotoksik serta antioksidan yang potensial. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh katekin terhadap pertumbuhan sel kanker dan aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 menggunakan MTT Assay. Dari hasil penelitian katekin dari daun gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb) mempengaruhi pertumbuhan sel MCF-7 ($p < 0.05$). Dari hasil analisis dengan persamaan regresi, nilai IC_{50} 17,7 $\mu\text{g/mL}$, yang berada dalam kategori sitotoksik aktif ($IC_{50} < 30 \text{ mg/mL}$). Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa katekin dari *Uncaria gambir* memiliki aktivitas sitotoksik aktif dan berpotensi untuk dikembangkan dalam terapi alternatif pengobatan kanker payudara.

Kata kunci: Katekin; *Uncaria gambir*; MCF-7; MTT

Abstract

Breast cancer is one of the most deadly types of cancer for women. Chemotherapy treatment often causes adverse side effects. Catechins from gambir leaves (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb) have potential cytotoxic and antioxidant activities. This study aims to determine the effect of catechins on cancer cell growth and cytotoxic activity against MCF-7 cells using the MTT Assay. From the study's results, catechins from gambir leaves affect the development of MCF-7 cells ($p < 0.05$). From the analysis results with the regression equation, the IC_{50} value is 17.7 $\mu\text{g/mL}$, which is in the active cytotoxic category ($IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$). From the analysis results with the regression equation, the IC_{50} value was 17.7 $\mu\text{g} / \text{mL}$, which is in the active cytotoxic category ($IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$). From the results of the study, it can be concluded that catechins from *Uncaria gambir* have active cytotoxic activity and have the potential to be developed in an alternative therapy for breast cancer treatment.

Keywords: Catechin; *Uncaria gambir*; MCF-7; MTT

PENDAHULUAN

Kanker merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan terjadinya perkembangan sel yang tidak normal. Sel kanker adalah sel yang terus menerus melakukan pembelahan tanpa mengalami kematian. Kanker payudara merupakan penyakit yang disebabkan sel ganas (kanker) yang tumbuh pada jaringan payudara. Lebih dari 20 tahun, insidensi kanker payudara mengalami peningkatan setiap tahun. Berdasarkan data *Global Burden of Cancer* (GLOBCAN) jumlah kasus baru kanker payudara mencapai 68.858 kasus (16,6%) menempati urutan pertama terkait jenis

kanker paling banyak terjadi di Indonesia dengan jumlah kematian 22,430 kasus (9,6%) (*International Agency for Research on Cancer*, 2020).

Untuk mengatasi tingginya insidensi penyakit kanker payudara ini, penemuan dan pengembangan pengobatan kanker harus terus diupayakan. Akan tetapi efek samping dari beberapa terapi yang sudah digunakan dapat menurunkan kualitas hidup pasien (Hosseini & Ghorbani, 2015). Oleh karena itu pencarian bahan alam sebagai alternatif pengobatan kanker sangat gencar dilakukan.

Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai alternatif terapi dari tanaman gambir (*Uncaria gambir*

(Hunter) Roxb). Ekstrak daun gambir mempengaruhi pertumbuhan sel *Mouse Embryonic Fibroblast* (NIH-3T3) dengan IC_{50} 23,83 $\mu\text{g/mL}$ bersifat sangat toksik (Pramanik *et al.*, 2023). Ekstrak etil asetat dari gambir memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dengan hasil yang diperoleh menunjukkan nilai IC_{50} 91,98 $\mu\text{g/mL}$ (Yeni *et al.*, 2014). Ekstrak gambir sebagian besar mengandung katekin dan asam tannat yang termasuk golongan flavonoid (Isnawati *et al.*, 2012).

Katekin sebagai senyawa polifenol memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antimikroba (Aditya & Ariyanti, 2016), bersifat toksik bagi sel kanker (Widiyarti *et al.*, 2020). Rahmaddiansyah *et al.* (2022), katekin memiliki aktivitas antiproliferasi terhadap pertumbuhan sel kanker serviks Katekin yang diisolasi dari gambir mempengaruhi pertumbuhan sel HeLa dengan nilai IC_{50} sebesar 58,9 $\mu\text{g/mL}$ (Bakhtra *et al.*, 2023).

Berdasarkan uraian diatas terbukti bahwa katekin berpotensi memberikan aktivitas sitotoksik. Dalam penelitian ini, peneliti menggunakan sel kultur MCF-7, dimana diharapkan hasil penelitian ini bisa digunakan sebagai pembanding dan acuan dalam penemuan terapi selektif yang dapat membunuh sel kanker payudara. Dalam penelitian ini peneliti menggunakan *Microculture Tetrazolium Test* (MTT) dan berbagai variasi konsentrasi uji.

METODE

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rotary evaporator* (Heidolph), *incubator CO2*, senterifus, filter 0,22 μm , *flask culture* 25 cm^3 , *96-well plate*, *eppendorf tube* 1,5 mL, *ELISA reader*, timbangan analitik, *microscope inverted*, *hemacytometer*, *syringe filter* 5 mL, *bio safety cabinet* (BCS) dan plat silica gel F254. Bahan yang digunakan biskuit gambir, sel kultur MCF-7, *Rowse Park Memorial Institute* (RPMI) 1640, *fetal bovine serum*

(FBS), *penisilin streptomisin* (PenStrep), *trypsin EDTA* 0,25% *trypan blue stain* (Gibco, USA), *phosphate buffered saline* (PBS) (sigma Aldrich Chemical Co, USA), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT reagen) (Calbiochem, USA), *dimethylsulfoxide* (Fisher Chemical, USA).

Isolasi katekin dari *Uncaria gambir*

Sebanyak 500 g biskuit gambir dihasilkan dan dimaserasi dengan menggunakan etil asetat, dilakukan 3 kali pengulangan. Maserat dipekatkan secara *in vacuo* menggunakan *rotary evaporatory*. Proses isolasi dan pemurnian dilakukan dengan menambahkan aquadest kemudian dipanaskan pada suhu 70° C selama 10 menit, lalu dinginkan pada lemari pendingin selama 24 jam. Pasta yang terbentuk setelah proses pendinginan di saring dan bilas menggunakan aquadest untuk menghilangkan sisa etil asetat. Endapan yang diperoleh selanjutnya dikeringkan menggunakan oven untuk mendapatkan serbuk katekin murni (Ediningsih & Rahayuningsih, 2019; Bakhtra *et al.*, 2023).

Identifikasi katekin

Identifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT), bercak noda isolat katekin dibandingkan dengan katekin pembanding. Fase gerak digunakan Etil asetat : Metanol : Aquadest (7:1,35:1), dan fase diam Silika gel 60G F254. Bercak noda hasil KLT diamati di bawah lampu UV 254 nm (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017; Standar Nasional Indonesia, 2000).

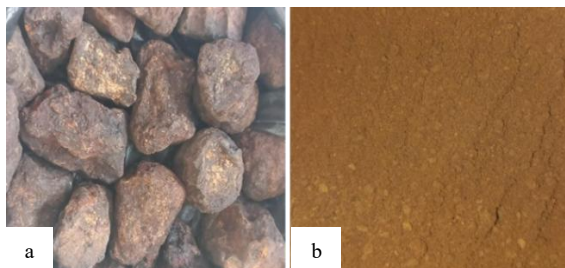
Uji aktivitas sitotoksik

Uji aktivitas sitotoksik dilakukan dengan menggunakan *MTT assay* (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). Sel MCF-7 diberi isolat katekin yang diisolasi dari *Uncaria gambir* dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam pada *96-well plate*. Setelah diinkubasi 24 jam,

ditambahkan reagen MTT 100 μ L (50 mg serbuk MTT dalam 10 ml PBS) setiap *well-plate* dan diinkubasi 2-4 jam. Setelah kristal formazan terbentuk, tambahkan stopper 100 μ L SDS 10 % dalam 0,01 N HCl. Dengan menggunakan ELISA reader, ukur nilai absorbansi masing-masing sel. Dengan persamaan regresi antara log konsentrasi dan viabilitas sel, tentukan nilai IC_{50} (Bakhtra *et al.*, 2024). Hasil dari pengolahan data absorbansi di analisis menggunakan SPSS 2.0 dengan menentukan *p-value*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

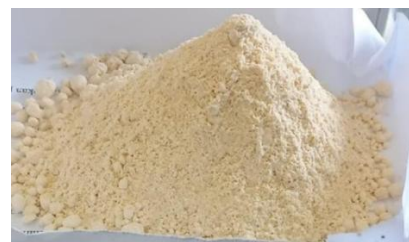
Gambir adalah sari kental yang diperoleh dari pengolahan daun tanaman gambir yang diendapkan dalam berbagai bentuk yang sudah dikeringkan (**Gambar 1**) (Standar Nasional Indonesia, 2000). Dari hasil isolasi katekin dari biskuit gambir didapatkan serbuk halus katekin, warna putih kekuningan dengan aroma khas, rasa kelat sedikit pahit (**Gambar 2**). Dari 500 g biskuit gambir diperoleh sebanyak 33,13 g isolat katekin dengan nilai rendemen 7,02 %.



Gambar 1. Biskuit gambir/ ekstrak kering (a); dan serbuk biskuit /gambir (b)

Katekin merupakan senyawa antioksidan aktif yang berasal dari flavonoid yang berpotensi sebagai antikanker. Katekin termasuk senyawa polifenol alami, termasuk metabolit sekunder dan termasuk dalam penyusunan golongan tannin. Katekin merupakan senyawa fungsional dominan yang terdapat dalam gambir, katekin biasanya disebut juga dengan asam catechol dengan struktur aromatis dengan rumus kimia $C_{15}H_{14}O_6$ larut dalam alkohol dan etil asetat

hampir tidak larut dalam kloroform, benzen, dan eter.



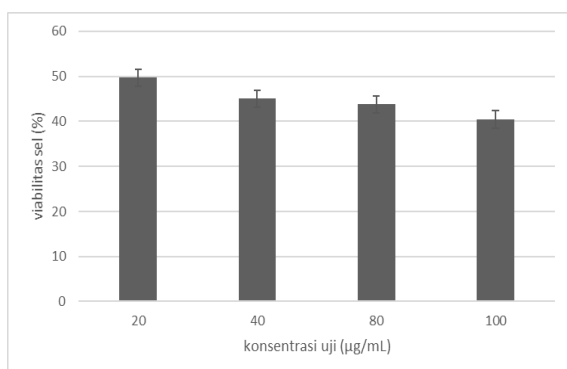
Gambar 2. Isolat katekin

Hasil identifikasi dengan menggunakan KLT, didapatkan nilai R_f 0,66 dan nilai yang sama dengan pembandingan katekin (**Gambar 3**), dilakukan uji KLT dimana ini bertujuan untuk melihat senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam ekstrak berdasarkan tingkat kepolaran antara ekstrak dan pelarut yang digunakan (Stahl, 1985). Pemisahan senyawa ditandai dengan terbentuknya pola noda pada plat KLT yang memisah. Uji KLT katekin menggunakan fase gerak etil asetat : metanol : aquadest (7:1,35:1) dimana etil asetat bersifat semi polar dan metanol serta aquadest bersifat polar hal ini bertujuan untuk mengetahui pemisahan noda yang terbentuk berdasarkan tingkat kepolaran senyawa yang tertahan pada fase diam atau justru akan tertarik oleh fase gerak. Hasil pemisahan KLT dari katekin dengan pengamatan langsung dibawah sinar UV 254 yaitu nilai R_f yang diperoleh sebesar 0,66.



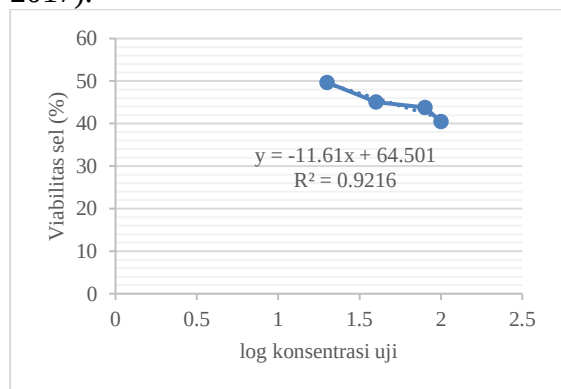
Gambar 3. Hasil KLT isolat katekin dan katekin pembandingan

Dari hasil pengujian menggunakan MTT assay, didapatkan nilai absorbansi yang menurun dengan peningkatan konsentrasi uji. Dari hasil analisis perhitungan viabilitas sel, peningkatan konsentrasi uji menyebabkan menurunnya viabilitas sel (gambar 4). Dari hasil analisis statistik, terdapatnya pengaruh pemberian isolat katekin terhadap pertumbuhan sel MCF-7, dengan *p-value* kecil dari 0,05.



Gambar 4. Nilai Viabilitas sel MCF-7 setelah pemberian katekin

Dari hasil analisis menggunakan persamaan regresi antara viabilitas sel (%) dengan konsentrasi uji (µg/mL) didapatkan nilai IC_{50} 17,7 µg/mL (gambar 5). terdapatnya linieritas antara peningkatan konsentrasi uji dengan viabilitas sel (%). Menurut *National Cancer Institute*, senyawa memiliki efek sitotoksik aktif jika memiliki nilai IC_{50} <30 µg/mL, cukup aktif jika nilai IC_{50} adalah 30 µg/mL atau IC_{50} <100 µg/mL, dan tidak aktif jika nilai IC_{50} > 100 µg/mL (Polite *et al.*, 2017).



Gambar 5. Grafik persamaan regresi antara katekin dengan viabilitas sel

Dari penelitian terdahulu, katekin yang diisolasi dari gambir memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel Hela dengan menginduksi kematian sel berupa apoptosis (Rahmaddiansyah *et al.*, 2022; Bakhtra *et al.*, 2023). Katekin yang diisolasi dari gambir dapat menghambat migrasi sel HeLa karena katekin merupakan senyawa antioksidan aktif yang berasal dari flavonoid (Bakhtra *et al.*, 2023). Aktivitas sitotoksik disebabkan adanya interaksi senyawa aktif dengan reseptor sel, intensitas efek material sebanding dengan fraksi reseptor yang terikat, dan fraksi reseptor tergantung pada dosis dan durasi paparan (Saganuwan, 2021)

Flavonoid memiliki efek sebagai penghambatan proliferasi tumor/ kanker yang salah satunya dengan menginhibisi aktivitas protein kinase, sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran ke sel inti. Flavonoid juga berfungsi untuk mengurangi resistensi tumor terhadap agen kemoterapi. Selain itu flavonoid juga dapat membunuh sel kanker karena adanya gugus OH^- pada flavonoid yang berikatan dengan protein integral membran sel. Hal ini menyebabkan terbentuknya transport aktif Na^+ dan K^+ . Transpor aktif yang berhenti, menyebabkan pemasukan ion Na^+ yang tidak terkendali ke dalam sel, hal ini menyebabkan pecahnya membran sel, pecahnya membran sel inilah yang menyebabkan kematian sel (Nurhayati *et al.*, 2006).

Katekin memiliki fungsi tidak hanya sebagai antioksidan kuat, mencegah kerusakan oksidatif pada sel sehat, tetapi juga sebagai anti angiogenik, agen antitumor, dan modulator dari respon sel tumor terhadap kemoterapi. Katekin bisa menginduksi apoptosis dengan meningkatkan caspase dan mendorong penghentian pertumbuhan sel dengan mengubah ekspresi protein pengatur siklus sel (Sari, 2019). EGCG (*epigallocatechin gallate*) menghambat pertumbuhan dan proliferasi sel turunan HCC (hepatocellular carcinoma) manusia dengan menginduksi apoptosis (Shimizu *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Katekin yang diisolasi dari gambir mempengaruhi pertumbuhan sel MCF-7, semakin tinggi konsentrasi uji semakin kecil nilai persen viabilitasnya dengan nilai $p < 0,05$. Selain mempengaruhi pertumbuhan sel, katekin yang diisolasi dari gambir memiliki aktivitas sitotoksik kecil dari 30 $\mu\text{g/mL}$ dan dapat dikategorikan sitotoksik aktif.

DAFTAR RUJUKAN

- Aditya, M., Ariyanti, P. R. 2016. Manfaat gambir (*Uncaria gambier* Roxb) sebagai Antioksidan. Jurnal Majority Universitas Lampung, 5(3) 129-133.
- Bakthra, D. D. A., Uyun, H. S. K., Eriadi, A., Fajrina, A., Wiliantari, S., Praciska, W., Wandani, J. D. 2023. Pengaruh pemberian katekin Terhadap Pemberian Kultur Sel Kanker Servik. Jurnal Farmasi Higea, 15 (2), 163- 170.
- Bakthra, D.D.A., Fajrina, A., Ameliona, P. 2024. Uji aktivitas sitotoksik ekstrak n-heksan daun alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap sel kanker kulit B16f0 dengan metode microculture tetrazolium test. Jurnal farmasi higea, 16(1):6-10.
- Hosseini, A & Ghorbani, A. 2015. Cancer Therapy with Phytochemicals: evidence from clinical studies. Avicenna J Phytomed, 5 (2): 84-97.
- International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN (2020). Indonesia Global Cancer Observatory. diakses 27 Oktober 2022 dari : <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf>.
- Isnawati, A., Raini, Ma., Sampurno, O. D., Mutiatikum, D., Widowati, L., Gitawati, R. 2012. Karakterisasi Tiga Jenis Ekstrak Gambir (*Uncaria gambier* Roxb) Dari Sumatera Barat. Bul. Penelit. Kesehat, 40(4): 201 – 208.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. Acuan Bahan Baku Obat Tradisional dari Tumbuhan Obat Di Indonesia. Jakarta: Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- Ediningsih., & Rahayuningsih, S. 2019. Extraction, Isolation, Characterisation and Antioxidant Activity Assay of Catechin Gambir (*Uncaria gambier* (Hunter). Roxb. Al-Kimia, 7(2): 177-188. <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v7i2.7800>
- Nurhayati, A.P.D., Nurlita, A. & Rachmat, F. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak Eucheuma Alvarezii terhadap Artemia salina sebagai Studi Pendahuluan Potensi Anti Kanker. Akta Kimindo, 2(1) : 118.
- Polite, B. N., Adams-Campbell, L. L., Brawley, O. W., Bickell, N., Carethers, J. M., Flowers, C. R, et al. 2017. Charting the future of cancer health disparities research: A position statement from the American association for cancer research, the American cancer society, the American society of clinical oncology, and the national cancer institute. CA Cancer J Clin, 67(5):353-61.
- Pramanik, F., Satari, M. H., Azhari, A. 2023. Cytotoxic Activity of Gambier Leave (*Uncaria gambier*) Ethyl Acetate Extract on Mouse Embryonic Fibroblast Cell (NIH-3T3) using MTT Assay. The Open Dentistry Journal, 17: 1-6.
- Rahmaddiansyah, R., Hasani, S., Zikrah, A.A., & Arisanty, D. (2022). The Effect of Gambier Catechin Isolate on Cervical Cancer Cell Death (HeLa Cell Lines). Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences, 10(B), 1293–1297.
- Saganuwan, S. A. 2021. Application of modified Michaelis-Menten equations for determination of enzyme inducing and inhibiting drugs. BMC Pharmacol Toxicol, 22(1):57.
- Sari, L. M. (2018). Apoptosis: Mekanisme Molekuler Kematian Sel. Cakradonya Dental Journal, 10(2), 65-70.
- Shimizu, H., Schredelseker, J., Huang, J., Lu, K., Naghdi, S., Lu, F., Franklin, S., Fiji, H.D.G., Wang, K., Zhu, H., Tian, C., Lin, B., Nakano, H., Ehrlich, A., Nakai, J., Stieg, A.Z., Gimzewski, J.K., Nakano, A., Goldhaber, J.I., Vondrisk, T.M., Hajnoczky, G., Kwon, O., Chen, J.N. (2015). Mitochondrial Ca^{2+} uptake by the voltage-dependent anion channel 2 regulates cardiac rhythmicity. eLife, 4: e04801. DOI: 10.7554/eLife.04801.
- Stahl, E. (1985). Analisis obat secara



- kromatografi dan mikroskopi*. Bandung : ITB, 3-4.
- Standar Nasional Indonesia. (2000). *Gambir*. Jakarta : Badan Standarisasi Nasional. SNI 01-3391-2000.
- Widiyarti, G., Sundowo, A., Filaila, E., & Laksmono, J. A. 2020. The Mechanically Extraction Process from Leaves and Twigs of Gambier (*Uncaria gambier* Roxb) and Its Antioxidant Activity. *J. Pure App. Chem. Res*, 9(1): 8–15.
- Yeni, G., Syamsu, K., Suparno, O., Mardliyati, E., & Muchtar, H. (2014). Repeated Extraction Process Of Raw Gambiers (*Uncaria Gambier* Robx.) For Thecatechin Production As An Antioxidant. *International Journal of Applied Engineering Research*, 9(24), 24565–2457